

ПОВРЕЖДЕНИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ПРИ МИГРАЦИОННОМ АСКАРИДОЗЕ

*Зорина В.В., Бекиш О.-Я.Л., Бекиш В.Я.
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. При применении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток нами было установлено, что метаболиты мигрирующих личинок аскарид обладают генотоксическим воздействием на соматические и генеративные клетки мышей-самцов линии СВА [5]. Наибольшая выраженность цитогенетических нарушений в соматических и генеративных клетках приходится на период активной миграции личинок аскарид по кровяному руслу (3-14 дни инвазии). Возможные изменения в геноме инвазированного личинками аскарид хозяина при беременности и в наследственном аппарате эмбриональных клеток, а также эмбриотоксические изменения ранее не исследовались.

Цель исследования – изучить эмбриотоксические изменения, а также возможные генотоксический и цитотоксический эффекты в клетках костного мозга беременных самок и клетках их эмбрионов при экспериментальном миграционном аскаридозе в зависимости от срока заражения.

Материалы и методы. Исследования проведены на 30-ти самках и 10 самцах белых беспородных мышей массой 16-18 г в возрасте 3-4 месяца. Животных помещали в клетки в соотношении 3 самки и 1 самец. Скрещивание проводилось в течение 24 часов. Наступление беременности у самок определяли по гиперемии наружных половых органов и наличию сперматозоидов в мазке из влагалища. Беременных самок разделяли на 3 группы по 10 животных в каждой. Мышам 1-ой группы (интактный контроль) вводили внутривентрально 0,2 мл 2 % крахмального геля. Мышей второй и третьей группы заражали внутривентрально в дозе 20 инвазионных яиц *Ascaris suum* на 1 г массы тела на 1-й и 10-й дни беременности соответственно. На 14-й день беременности всех самок умерщвляли путем декапитации, выделяли бедренные кости и матку с эмбрионами.

Для изучения возможных генотоксических и цитотоксических нарушений в соматических клетках самок и их эмбрионов применяли щелочной гель-электрофорез изолированных клеток или метод “ДНК-комет” по N.P. Singh et al., модифицированному B. Hellman et al. и нами.[2] Клеточные суспензии костного мозга и эмбрионов получали по разработанным нами методам [2, 4]. Повреждения молекулы ДНК определяли при помощи автоматической программы “CASP v. 1.2.2”. В микропрепарате подсчитывалось по 50 клеток, в каждой из которых учитывались следующие показатели генотоксичности: “длина хвоста кометы” в пикселях; процент ДНК в “хвосте кометы”; “момент хвоста”, вычисленный программой из “длины хвоста”, умноженной на процент ДНК в “хвосте кометы”. Для оценки цитотоксического воздействия метаболитов личинок аскарид в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических, имеющих минимальные размеры ядра и большой разбросанный во все стороны “хвост кометы”. Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Excel 2002. Рассчитывалась средняя арифметическая и ее стандартное отклонение

(M±SD). Достоверность выявленных различий определяли по t-критерию Стьюдента. Полученные данные у инвазированных самок и их эмбрионов сравнивались с показателями интактного контроля.

Результаты и их обсуждение. При заражении на 1-й день беременности культурой инвазионных яиц *A. suum* в дозе 20 на 1 г массы тела животного в костном мозге самок на 14-й день беременности все исследуемые показатели генотоксичности, кроме процента ДНК в “хвостах комет”, не отличались от уровня контроля. Последний в 1,7 раза был выше контрольного уровня. Показатель цитотоксичности достоверно не отличался от уровня контроля. В клетках эмбрионов все исследуемые показатели генотоксичности и цитотоксичности не отличались от контроля.

При заражении на 10-й день беременности все исследуемые показатели генотоксичности в клетках костного мозга самок достоверно превышали контрольные величины. Так, длина “хвостов комет” составила $10,02 \pm 2,81$ пикселей и была в 2,7 раза выше контроля. Процент ДНК в “хвостах комет” был выше контрольного показателя в 7,3 раза. “Момент хвоста” был в 13,8 раз выше контрольного уровня. Число апоптотических клеток было достоверно выше в 12,3 раза, чем в группе интактного контроля. В клетках эмбрионов длина “хвостов комет” и процент ДНК в “хвостах комет” в 2,3 и 3,6 раза соответственно были выше контрольных показателей. “Момент хвоста” также изменялся и превышал контрольный уровень в 8,2 раза. Число апоптотических эмбриональных клеток было достоверно выше в 7,2 раза контрольного уровня.

При моделировании миграционного аскаридоза с 1-го дня беременности не наблюдаются генотоксических и цитотоксических изменений как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов на 14 день инвазии. Однако отмечается, повышение процента ДНК в “хвостах комет” в клетках костного мозга беременных самок в 1,75 раза по сравнению с показателем контроля. Эти результаты не согласуются с полученными нами ранее данными у мышей-самцов при миграционном аскаридозе с применением микроядерного теста [1]. При дозе заражения 20 яиц/г было установлено, что метаболиты мигрирующих личинок аскарид вызывают рост однопочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной молекулы ДНК и числа апоптотических клеток в костном мозге и семенниках инвазированных животных [3, 5]. Это несоответствие можно объяснить увеличением защиты генома самок мышей и их эмбрионов от мутагенных факторов во время беременности.

При заражении на 10-й день беременности к 14-му дню инвазии миграция личинок аскарид сопровождалась синхронным повреждением наследственного аппарата соматических клеток костного мозга самок и эмбриональных клеток зародышей. Эти изменения характеризовались повышением “момента хвоста” за счет увеличения процента ДНК в “хвостах комет” и “длины хвостов комет”, а также увеличением процента апоптотических клеток.

Выводы.

1. Миграция личинок аскарид при заражении на 10-й день после оплодотворения (4-й день инвазии) сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектом в соматических клетках костного мозга самок и клеток их эмбрионов на 14-й день беременности.

2. Инвазия аскаридами характеризуется увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга на 4,52 % и в клетках эмбрионов на 3,77 %, а также ростом числа апоптотических клеток в 7,2–12,3 раза

Литература:

1. Бекиш О.-Я.Л., Бекиш В.Я. // Вестн. нацыянальнай акадэміі навук Беларусі (Серыя біялагічных навук). – 2000. – № 2. – С. 109–113.
2. Дурнев А.Д., Бекиш В.Я. и др. / Методические рекомендации. Утв. РАМН и РАСН. – М., 2006. – 27 с.
3. Зорина В.В., Бекиш В.Я. // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями (Матер. докл. науч. конф. Выпуск 9). – М. – 2008. – С. 205–208.
4. Пашинская Е.С., Зорина В.В., Бекиш В.Я. // Достижения фундаментальной, клинической, медицины и фармации (Матер. 62-й научной сессии УО “ВГМУ”). – 2007, Витебск. – С. 163–166.
5. Стуканова Е.Ю., Зорина В.В., Бекиш В.Я. // Матер. 60-ой научно-практической конференции студентов и молодых ученых “Актуальные вопросы современной медицины и фармации” (24-25 апреля 2008 г.). – 2008, Витебск. – С. 316–318.